

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**Efectos de la hormona antimülleriana (AMH) en bovinos**

**POR  
MATHUS RICARDEZ MARTÍNEZ**

**MONOGRAFÍA  
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO**

**NOVIEMBRE DE 2015**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Efectos de la hormona antimülleriana (AMH) en bovinos

POR  
MATHUS RICARDEZ MARTÍNEZ

MONGRAFÍA

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR  
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR


PRESIDENTE:

  
MVZ. CARLOS RAMÍREZ FERNÁNDEZ

VOCAL:

  
M.C. JUAN LUIS MORALES CRUZ

VOCAL:

  
MVZ. RODRIGO I. SIMÓN ALONSO

VOCAL SUPLENTE:

  
DR. CARLOS LEYVA ORASMA

  
MC. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ  
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL  
  
Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal

TORREÓN, COAHUILA

NOVIEMBRE DE 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Efectos de la hormona antimülleriana (AMH) en bovinos

POR  
MATHUS RICÁRDEZ MARTÍNEZ

MONOGRAFÍA

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL COMITÉ DE ASESORÍA COMO  
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR

ASESOR PRINCIPAL:

  
MVZ. CARLOS RAMÍREZ FERNÁNDEZ

  
MC. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL  
  
Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal

TORREÓN, COAHUILA

NOVIEMBRE DE 2015

## AGRADECIMIENTOS

**Primero que nada, estar agradecido con el rey de reyes y señor de señores, a nuestro señor Jesucristo,** gracias a él por darnos la vida, la salud y por despertar a cada mañana, sin él no soy nada, sin él no somos nada, gracias por tener siempre misericordia de mi Jesús. Gracias por todas las bendiciones.

**A mis padres** Mathusalan Ricárdez Ricárdez y Angélica Martínez Fierros, **mis hermanos** Edgar Ricárdez Martínez, Ahimelet Ricárdez Martínez y Talia Ricárdez Martínez, en fin a toda mi familia en general les agradezco de todo corazón su apoyo incondicional tanto moralmente como económicamente. Muchas gracias.

**A mis amigos** José Humberto Alquisira, Felipe Gómez, Frank Alberto, Gil katalan, y muchos más, gracias por los consejos, por las buenas enseñanzas y por esas discusiones agradables que teníamos durante la carrera de Medicina Veterinaria, al final de cuentas era para nuestro bien y aprendíamos mucho, y por tantas cosas que pasamos juntos. Gracias amigos.

**A mi asesor** principal de mi monografía, Carlos Ramírez Fernández, quien también fue mi tutor en mi estancia en la UAAAN, gracias por los consejos, por las enseñanzas que recibí de parte de usted, en lo que fueron mis prácticas profesionales realizadas en el establo LLOCEE, sin duda alguna fue satisfactorio recibir consejos y buenos tips de parte de unos de los mejores médicos veterinarios. Gracias por todo tutor.

**A mi novia** Angélica Canales Hernández, por estar siempre conmigo  
alentándome en las buenas y en las malas.

## DEDICATORIAS

**A mis Padres** gracias por el apoyo incondicional que me han brindado, por los buenos consejos que me dan a cada día, por todo lo que me dan, no tengo con que agradecerles.

**A mis hermanos** que siempre han estado conmigo, apoyándome en toda situación, aunque tengamos algunas diferencias a todos los quiero y los estimo mucho.

**En fin a toda mi familia, mis tíos, mis abuelos, primos, sobrinos,** gracias a ellos también, por que en algún momento de mi carrera recibí apoyo de su parte y eso me alentó mucho. Gracias a dios por bendecirme con esta hermosa familia que poseo.

***“TODO LO PUEDO EN CRISTO QUE ME FORTALECE”***

***Filipenses 4.13***

## INDICE

AGRADECIMIENTOS.....	I
DEDICATORIAS.....	III
INDICE .....	IV
INDICE DE FIGURAS Y CUADROS.....	V
RESUMEN.....	VI
1.- INTRODUCCION.....	1
2.- REVISION DE LITERATURA .....	4
2.1 Antecedentes de las glándulas sexuales.....	4
2.2 Que es la AMH.....	5
2.3 Donde se produce la AMH .....	6
2.3.1 Sexo masculino.....	6
2.3.2 Sexo femenino .....	9
2.4 Función de la AMH .....	13
2.4.1 Sexo masculino.....	13
2.4.2 Sexo femenino .....	17
2.5 Intervención de la AMH en la foliculogénesis.....	19
2.6 Niveles séricos de la AMH.....	23
2.6.1 Sexo masculino.....	23
2.6.2 Sexo femenino .....	26
2.7 Estudios de la AMH en bovinos y diferentes especies .....	31
2.7.1 Bovinos.....	31
2.7.2 Ovinos .....	33
2.7.3 Humanos.....	33
2.7.4 Equinos .....	36
2.8 Nuevas alternativas de la AMH .....	36
2.9 Medición de la AMH .....	38
3.- CONCLUSIONES.....	40
4.- RECOMENDACIONES.....	41
5.- LITERATURA CITADA .....	42

## INDICE DE FIGURAS Y CUADROS

### *Figuras*

Figura 1. Vía genética de la determinación del sexo de los mamíferos en la gónada XY....	8
Figura 2. Desarrollo sexual femenino.....	11
Figura 3. Unión de la AMH a su receptor tipo II.....	15
Figura 4. Desarrollo sexual masculino .....	16
Figura 5. Actividad de la AMH en el ovario .....	18
Figura 6. Foliculogénesis .....	21
Figura 7. Intervención de la AMH en la foliculogénesis .....	22
Figura 8. Desarrollo folicular: Folículo primordial- folículo primario .....	22
Figura 9. Niveles circulantes de AMH desde la etapa fetal hasta la pubertad .....	24
Figura 10. Desarrollo esquemático de la evolución del volumen testicular desde el nacimiento hasta la edad adulta .....	24
Figura 11. Valores séricos en hombres y mujeres.....	25
Figura 12. Variaciones de AMH en sangre con la edad en mujeres normales .....	28
Figura 13. Comparación de los niveles de AMH en mujeres con Síndrome de Ovario Poliquístico y sin Síndrome.....	29
Figura 14. Niveles séricos AMH en diferentes condiciones.....	30
Figura 15. Interpretación de niveles séricos de AMH.....	30
Figura 16. Niveles de AMH en fumadoras y no fumadoras .....	35

### *Cuadros*

Cuadro 1. Valores de referencia en las concentraciones de AMH en suero en diversas especies.....	26
--	----



## RESUMEN

La hormona antimülleriana pertenece al factor de crecimiento transformante beta (TGF-B) un miembro de la súper familia de factores de crecimiento y diferenciación celular. Primeramente se dio a conocer en medicina humana, por su relación positiva en la fertilidad de las mujeres, así se despertó el ímpetu de llevar a cabo estudios en la especie bovina para comprobar su similitud. Se comprobó que su producción está dado por las células de Sertoli en bovinos machos y en hembras bovinas por las células de la granulosa, por su amplia implicación que tiene sobre estas gónadas promete ser uno de los marcadores más útiles si no el más útil sobre la fertilidad de los bovinos y de otras especies, ya que se ha demostrado en diferentes estudios que esta glicoproteína carece muy poco de variaciones en lo que va del ciclo en comparación con las demás hormonas implicadas. Gracias a la medición sérica de esta hormona en un estado prepuberal o en pubertad en machos, podemos detectar patologías y trastornos endocrinos. En hembras es un indicador muy prometedor sobre el reflejo de la reserva ovárica y también es indicativo de patologías gonadales.

**Palabras clave: Hormona, fertilidad, reserva ovárica, bovinos, glándulas sexuales.**

## 1.- INTRODUCCION

La hormona antimülleriana (AMH) también conocida como sustancia inhibidora Mülleriana, se le conoce así gracias a su acción principal de inhibir los conductos Müllerianos también conocidos como (paramesonéfricos), se le adjudico este nombre gracias a experimentos llevados a cabo por el francés endocrinólogo, Alfred Jost, quien hizo su descubrimiento a la mitad del siglo XX , que atreves de técnicas de ELISA o de inmunoensayo se puede determinar su concentración en suero y plasma sanguíneo, en liquido folicular y en el plasma seminal y en la cual se cuantifica como ng/ml (Pérez y Llinás, 2003).

Pertenece a un factor de crecimiento transformante beta (TGF-B) un miembro de la superfamilia de factores de crecimiento y diferenciación celular (Chalabi *et al.*, 2012).

La acción específica de esta hormona sucede entre las semanas 9 y 10 en la mayoría de las especies en gestación, específicamente durante la etapa de diferenciación del embrión, el cual se expresa exclusivamente en el sexo masculino y mamíferos (Rey *et al.*, 2013; Fuentes *et al.*, 2013).

Los conductos paramesonéfricos son los precursores de la formación de los órganos tubulares femeninos (oviductos, útero y el tercio superior de la vagina) (Cutting *et al.*, 2014).

Antiguamente se creía que esta sustancia era exclusivamente producida por las glándulas sexuales masculinas, pero a mediados de la década de 1980, un

equipo de investigación francés, demuestra que también es también producida en el tejido ovárico. Las células de Sertoli son las responsables de la producción de esta glicoproteína hasta la pubertad. En el caso de las hembras esta hormona se empieza a generar en las células de la granulosa de los folículos primarios, secundarios y la cual es detectada a partir de la semana 23 de gestación, cuando los canales de Müller ya se desarrollaron como oviductos, útero y vagina (Rey *et al.*, 2013).

Esta secreción hormonal, se creía que era un efecto de tipo embrionario, sin embargo las investigaciones modernas han demostrado que se sigue secretando en forma constante y con poca variación durante la etapa reproductiva de las especies. Esto ha provocado que sea blanco de numerosos estudios, debido a que sea propuesto como un marcador de alta especificidad en la fertilidad de ambos sexos, y puede ser un punto para predecir el estado de la función testicular en un estado prepuberal en machos y en el caso de las hembras se ha demostrado que es un indicativo de la reserva de folículos ováricos. La concentración sanguínea de esta hormona puede ser un indicativo de patologías, tanto de machos y hembras. En el caso de hembras existe una correlación positiva entre los altos valores y patologías neoplásicas de ovarios. En el caso de los machos es un indicador de trastornos de la esteroidogénesis, por que los andrógenos inhiben la producción de esta hormona (Pascual-Leone, 2009; Godoy *et al.*, 2012).

Souza *et al.* (2015), reportan que el descubrimiento y comportamiento de esta hormona puede ser una nueva alternativa en la eficiencia de la reproducción

animal, debido a su similitud de acción en la especie estudiada (humano) y determinar aquellos individuos con mayor prolificidad.

## 2.- REVISION DE LITERATURA

### 2.1 Antecedentes de las glándulas sexuales

Las primeras descripciones que sabemos sobre las glándulas sexuales, se deben gracias al anatomista, biólogo y fisiólogo el alemán Johannes Muller, quien descubrió los conductos Müllerianos en los años 1801-1858, y gracias al también anatomista y alemán Caspar F. Wolff, quien descubrió los conductos de Wolff en los años 1733-1794. Gracias al biólogo Estadunidense Frank R. Lillie, quien publico sobre un caso de ambigüedad genital en una ternera producto de una gestación gemelar heterosexual, en el que los 2 fetos compartían la misma placenta, encontró que en la ternera hembra los genitales internos habían involucionado y que además presentaba virilización de sus genitales externos, probablemente por algún factor soluble en la placenta producido por las gónadas de su gemelo macho y que hoy en día conocemos como testosterona y hormona antimülleriana (Pérez y Llinás, 2003).

Investigaciones y experimentos posteriores de Alfred Jost (1916-1991), en embriones vivos, demostró lo que él puso por nombre Inhibidor Mülleriano. Implanto fragmentos de testículos embrionario en conejas hembras antes de la diferenciación sexual y encontró al igual que en la ternera Free Martín de Lillie, que los animales se virilizaban externamente, tenían estímulos de las estructuras Wolfianas y regresión de los conductos Müllerianos. Cuando remplazo los fragmentos de testículos por implantes de solo testosterona, noto que los fetos se virilizaban pero no tenían regresión de las estructuras müllerianas. Esto lo llevo a

proponer la existencia de otro producto del testículo diferente a la testosterona, que en la actualidad llamamos Sustancia Inhibidora Mülleriana (Pérez y Llinás, 2003).

## **2.2 Que es la AMH**

La hormona antimülleriana (AMH), es una glicoproteína homodimérica unida por enlaces disulfuro y con un peso molecular de 140 kDa (Karkanaki *et al.*, 2011).

Pertenece a un factor de crecimiento transformante beta (TGF-B) un miembro de la superfamilia de factores de crecimiento y diferenciación celular (Chalabi *et al.*, 2012).

La familia a la cual pertenece esta hormona agrupa a más de 35 proteínas que comparten motivos estructurales pero que funcionalmente es muy diversa, estas proteínas son sintetizadas como pre-pro-proteínas los cuales están compuestos por un péptido-señal, una pro-región y una pequeña región biológicamente activa (Pérez, 2012).

Entre los integrantes que la componen se encuentran las activinas, inhibinas, proteína morfogénica del hueso BMP, hormona antimülleriana, su función es la de regular una gran cantidad de actividades biológicas como proliferación, migración y apoptosis en diferentes tipos celulares, tanto en el estado adulto como durante en el desarrollo embrionario. El factor de crecimiento transformante beta (TGF-B) a la cual pertenece la AMH es considerado como una citocina multifuncional (pleiotrópica) debido a los efectos que tiene sobre los diferentes tipos celulares. Es el regulador más potente de proliferación en células

mieloides, mesenquimales, epiteliales, linfoides, endoteliales y en varios tipos de células malignas. Alternativamente, puede estimular la proliferación de fibroblastos normales en células no epiteliales y cierto tipo de células mesenquimales. Es un fuerte estimulador de la síntesis y depósito de proteínas de matriz extracelular por parte de fibroblastos, osteoblastos y células endoteliales; además, induce la expresión de integrinas y receptores que median las interacciones celulares con proteínas de matriz extracelular (Gálvez *et al.*, 2004).

Las proteínas de esta familia (a excepción de la subfamilia GDNF e inhibina) actúan en las células blanco a través de la unión y formación de complejos heterotetraméricos con 2 subtipos de receptores con actividad kinasa serina-treonina. Estos receptores están clasificados como receptores tipo I y tipo II (en mamíferos siete de tipo I y cinco de tipo II) (Pérez, 2012).

Estos receptores se encuentran presentes en sus órganos blancos (Gónadas y Conductos Mullerianos) (Karkanaki *et al.*, 2011).

## **2.3 Donde se produce la AMH**

### **2.3.1 Sexo masculino**

Durante al menos cuatro décadas se pensó que la AMH era una hormona exclusivamente producida por las glándulas sexuales masculinas, en las células de Sertoli, su estudio se centraba inicialmente en los efectos fisiológicos sobre los conductos de Müller. Pero a mediados de la década de 1980, el equipo de investigación francés conformado por discípulos de Jost, los Dres, Nathalie Josso y Bernard Vigier, demostraron que también es producida en el tejido ovárico por

las células foliculares, específicamente en las células de la granulosa que son las homologas a las células de Sertoli del testículo (Rey *et al.*, 2013).

Su producción de esta hormona comienza en la gestación en la etapa embrionaria durante la diferenciación sexual, su manifestación inicial es independientemente de las gonadotropinas, en ese momento su expresión está dada por genes, para luego ser ligeramente estimulada por la FSH. Hacia la semana 9 de gestación las células de Sertoli comienzan a secretar la hormona antimülleriana y las células de Leydig inician la producción de testosterona. Al término de la semana 12 de la gestación, el proceso de diferenciación en los genitales internos como externos ha terminado completamente, y forman en conjunto lo que se denomina “sexo genital”. En la diferenciación de los genitales internos toman parte, tanto los conductos mesonéfricos o de Wolff, como los paramesonéfricos o de Müller (Jairo *et al.*, 2005; Rey *et al.*, 2013).

La estimulación por las gonadotropinas está dada ya que las células de Sertoli ubicadas en los tubos seminíferos expresan receptores para la FSH, mientras que las células de Leydig ubicadas en el tejido intersticial poseen receptores para la LH (Grinspon y Rey, 2011).

Así su expresión de esta glicoproteína en la etapa embrionaria estaría comandada por una cascada de genes que empieza desde que se inician las células germinativas que darán origen a los gametos sexuales. Durante las etapas gonadales indiferentes, la histología de la cresta urogenital es indistinguible entre macho y hembra. Los genes que iniciarían esta cascada serían el gen WT1 –



GATA4 (Figura 1), quienes a su vez estos activarían genes como SF1-DAX1-WNT4 y SRY-SOX9-SF1 que tendrían la responsabilidad de formar testículos u ovarios sobre una gónada bipotencial y también sobre la expresión de la AMH posteriormente (Hanley *et al.*, 2000; Kowner *et al.*, 2003).

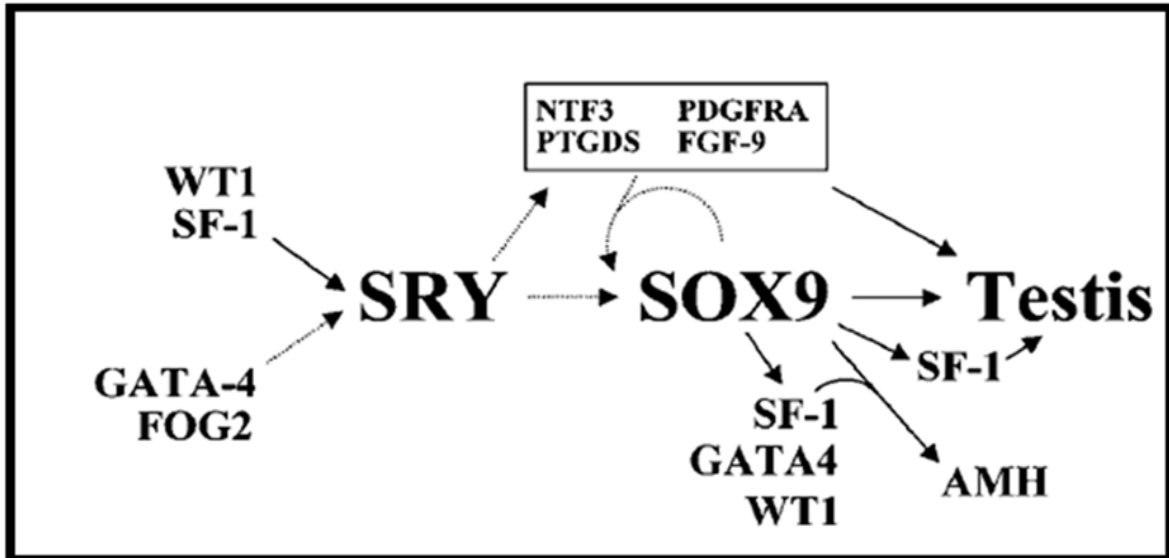


Figura 1. Vía genética de la determinación del sexo de los mamíferos en la gónada XY. Flechas continuas representan interacciones conocidas mientras que las líneas discontinuas representan interacciones de hipótesis (Kowner *et al.*, 2003).

Se ha propuesto que los genes SOX9 y el gen SF1 quizás actúen juntos en la expresión de la AMH inducida por el gen SRY debido a la unión que tienen sobre el promotor de esta hormona. Así estos genes trabajarían en colaboración para elevar los niveles de transcripción de la AMH (Colina y Moncada, 2007).

En la cascada de diferenciación sexual el gen SF1 es más importante ya que experimentos basados en la mutación de este gen, muestran disminuciones sobre la AMH y la regresión parcial de los conductos de Müller en comparación

con el gen SOX 9, evidenciando así su gran importancia en la diferenciación sexual tanto masculina como femenina (Knower *et al.*, 2003).

Pérez y Llinás, (2003), mencionan que la AMH es uno de los primeros productos que resultan una vez que la gónada se diferencia hacia testículo bajo la influencia del gen SRY.

Este gen está localizado en el cromosoma 19 (Colina y Moncada, 2007).

### **2.3.2 Sexo femenino**

En la mujer y en animales hembras, la testosterona y la AMH no se expresan durante la diferenciación sexual, asegurando así el desarrollo normal del tracto genital (Figura 2), para más adelante empezar con su producción (Jairo *et al.*, 2005; Almeida *et al.*, 2011).

La AMH es detectada partir de la semana 23 de la vida fetal en el ovario, cuando los conductos Paramesonéfricos ya dejaron de ser sensibles a esta hormona y formaron útero, trompas y vagina, su expresión se limita a las células de la granulosa de los folículos primarios, secundarios y antrales; los folículos preantrales y antrales pequeños son los principales productores y son los responsables de su liberación al torrente sanguíneo, también es importante saber que las células de los folículos primordiales, células germinales (ovogonias y ovocitos), células de folículos atrésicos, del cuerpo lúteo y del intersticio ovárico, no la producen (Rey *et al.*, 2013).

Su producción en la etapa folicular comienza desde el folículo primario hasta la formación inicial del antro (Karkanaki *et al.*, 2011).

Así su expresión aumenta gradualmente y alcanza su pico en los folículos preantrales y antrales en aproximadamente 4 mm de diámetro. Después de este umbral, la expresión de AMH disminuye, convirtiéndose en indetectable cuando los folículos alcanzan un diámetro de 8 mm (Almeida *et al.*, 2011).

Su expresión de esta hormona en las células foliculares está regulada por factores similares a los testiculares, ya que todos los folículos poseen receptores de LH en las células de la teca y de FSH en la células de la granulosa. La FSH aumenta la producción de la AMH en cada célula folicular, pero cuando las células maduran por el efecto continuado de las gonadotrofinas y esteroides, la producción de este cae, lo que explica la disminución en los niveles circulantes en los ciclos bajo tratamiento diario con FSH. También el estradiol reprime la expresión de la hormona en células de la granulosa ya que expresa más receptores de estrógenos  $\alpha$  que  $\beta$  (Bó, 2002; Rey *et al.*, 2013).

La forma en que la FSH es capaz de estimular la transcripción de la AMH en el ovario es probablemente a través del factor transcripción nuclear Kappa B (NFkB) modulando de esta forma el crecimiento folicular, también el NFkB se ha propuesto que actuaría igual en la célula de Sertoli a través de la vía de AMPc - PKA. El (NFkB) se ha reportado como un factor anti-apoptosis en las células de la granulosa (Rojas *et al.*, 2014).

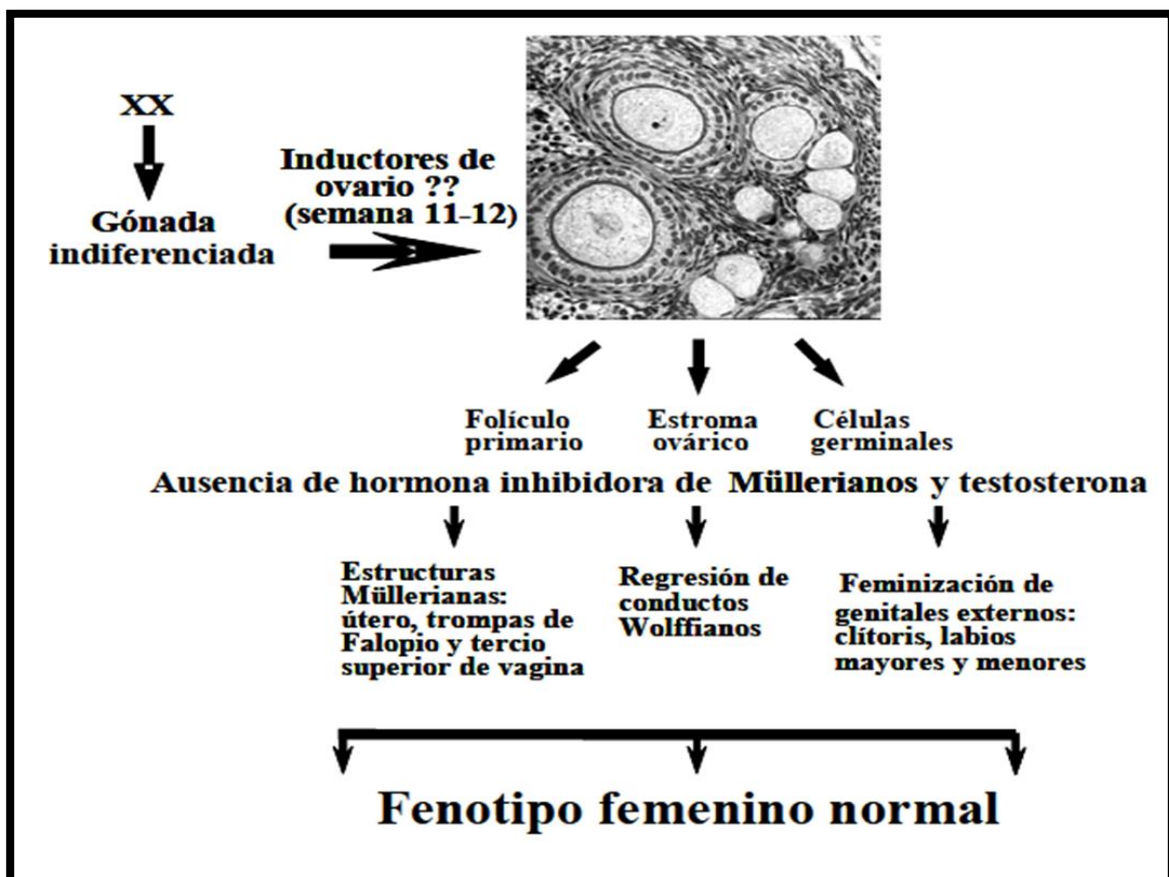


Figura 2. Desarrollo sexual femenino (Kofman y Queipo, 2005).

Como se mencionó anteriormente las gonadotropinas tienen cierta estimulación sobre esta hormona pero Karkanaki *et al.* (2011), reportan que la

proteína morfogenética ósea (BMP-6) también cumpliría un rol sobre la AMH, aumentando su expresión en las células de la granulosa de los folículos humanos. Así la BMP-6 producida por las células de la granulosa de folículos en desarrollo aumentaría la expresión de esta glicoproteína, manteniendo su equilibrio dinámico.

Esta proteína se encuentra también para estimular la expresión del ARNm del receptor de FSH y de la mencionada AMH. Folículos con alta expresión de la BMP-6 pueden ser más propensos a sobrevivir a una disminución de FSH en suero y para llegar a la etapa de folículo dominante (Evkuran *et al.*, 2013).

La familia BMP al igual que la AMH pertenece a la superfamilia de factores de crecimiento (TGF-  $\beta$ ) y es la más grande dentro de esta, así varios estudios han demostrado que los BMPs, regulan el crecimiento, la diferenciación y la apoptosis en una amplia variedad de tejidos, incluyendo el ovario. La proteína morfogenética ósea se expresa en los oocitos, células de la granulosa y células de la teca en los folículos ováricos durante las diferentes etapas de desarrollo, es indicativa de posibles efectos autocrinos y paracrinos durante el crecimiento del folículo. Estudios *in vitro* han demostrado BMP-6 controla la esteroidogénesis y la proliferación celular en células de la granulosa y células de la teca en ovinos, se estableció que esta proteína inhibe la diferenciación de células de la granulosa ovina (Rocha, 2010).

También estimula la expresión génica de la inhibina / activina $\beta$ A y subunidades  $\beta$ B pero no la subunidad de inhibina- $\alpha$  en células de la granulosa humanas (Evkuran *et al.*, 2013).

Investigaciones en bovinos demostraron un aumento en el número de células de la granulosa después de un periodo de cultivo de 6 días, suplementado con BMP-6. Un estudio realizado en 2 universidades de Brasil demostraron por primera vez que la BMP-6 promueve la atresia de folículos primordiales en cabras durante cultivo in vitro de tejidos corticales de ovario durante 7 días, en contraste con otros estudios demuestra que la BMP-6 mantiene la viabilidad de las células de la teca en cerdos durante un periodo de cultivo de 6 días. Sin embargo, las diferencias en los tipos de células y especies animales deben ser consideradas para comprender los modos de actuar por parte de esta proteína, o tal vez actué de diferente modo en diferentes especies de animales (Rocha, 2010).

Todos estos hallazgos, despertaron el interés de saber si esta hormona podría tener alguna semejanza en la forma de actuar en especies de animales. Así estudios realizados en la especie bovina han confirmado la localización de la expresión de AMH en células de la granulosa de folículos en crecimiento y antrales pequeños, lo que demuestra que podría tener la misma similitud a como pasa en humanos (Souza *et al.*, 2015).

## **2.4 Función de la AMH**

### **2.4.1 Sexo masculino**

Primeramente se conocía que su función primordial era la contribuir al desarrollo normal del sexo masculino atresiendo los Conductos Mülllerianos en la gestación (Figura 4), pero investigaciones posteriores reportaron que también tiene más implicaciones sobre estas gónadas. Se demostró que esta glicoproteína ejerce su acción a través de receptores para inhibir dichos conductos, hasta hoy

se han identificados dos receptores para la AMH pero solo uno de ellos parece tener más importancia. El receptor tipo II es de tipo Serina / Treonina con un solo dominio de transmembrana y esta codificado por un gen localizado 12q13. La unión a su receptor, induce la fosforilación y activación de un segundo mensajero intracelular, a su vez este activa y fosforiliza proteínas citoplasmáticas específicas para el receptor llamadas "Smads". El segundo mensajero activado entra al núcleo y se fija para promover a los genes blanco. La forma de actuar de esta hormona para atresiar los conductos Paramesonéfricos, empieza con la unión a un receptor AMHRII, expresado en el mesénquima de dichos conductos (Figura 3), iniciando así la cascada de transducción que produce finalmente la desaparición de estas estructuras a la 10ª semana de vida fetal en el sexo masculino (Pérez y Llinás, 2003).

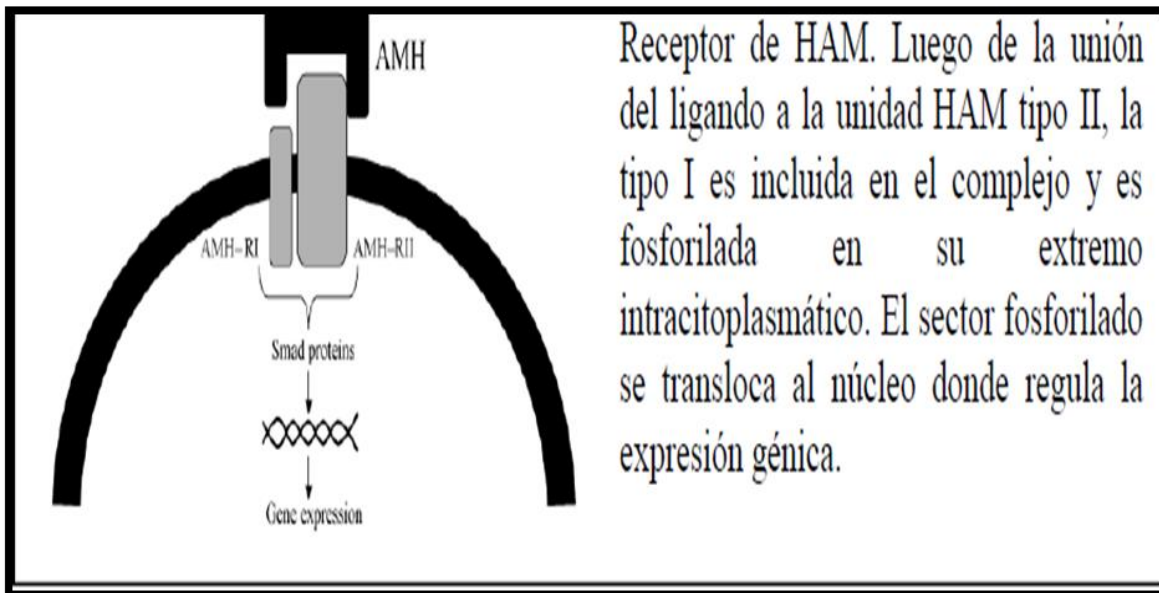


Figura 3. Unión de la AMH a su receptor tipo II (De Caro y Sícario, 2008).

Sin embargo los estudios más recientes, de fragmentación internucleosomal de DNA, han confirmado que la AMH induce la apoptosis de las células epiteliales del conducto Mülleriano por la vía de un mecanismo paracrino a partir de señales derivadas de los receptores AMHRII que se expresan en el mesénquima y que el proceso de la apoptosis es progresivo en dirección craneal a caudal (Linás y Pérez, 2003).

En embriones de roedores, queda demostrado que el receptor AMHRII se expresa en las gónadas en desarrollo y en los conductos de Müller, donde media su regresión inducida por esta hormona. En Aves se ha reportado que la AMHRII se expresa en las gónadas y conductos de Müller de ambos sexos antes y durante la diferenciación sexual, haciendo referencia la gran importancia que tiene la AMH en esta especie (Cutting *et al.*, 2014).



Así una producción deficiente o disfunción de sus receptores, provoca que los conductos de Müller se diferencien en oviductos, útero y el tercio superior de la vagina en los embriones masculinos (Karkanaki *et al.*, 2011).

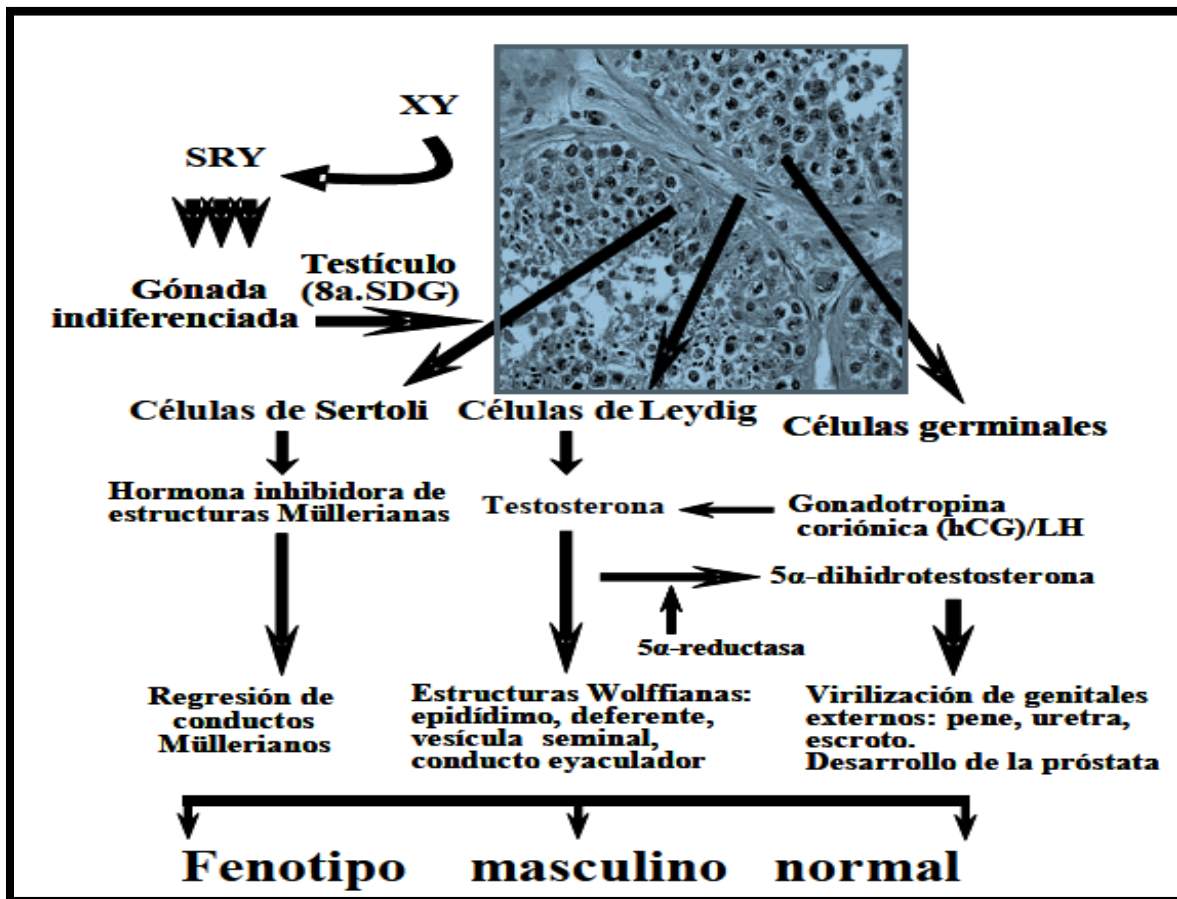


Figura 4. Desarrollo sexual masculino (Kofman y Queipo, 2005).

Aunque no se conoce la función específica de esta hormona luego del nacimiento en el sexo masculino, se han reportado niveles altos en los dos primeros trimestres de vida intrauterina; luego disminuye hacia el nacimiento y permanece baja durante los primeros 10 a 15 días de vida, pero se incrementa

nuevamente para mantenerse elevada durante la infancia, y hasta el inicio de la pubertad. Durante la vida fetal y en los primeros meses luego del nacimiento, los altos niveles de testosterona no inhiben la secreción de AMH, esta falta de respuesta de esta hormona a los andrógenos encontraría su explicación en que la células de Sertoli no expresaría el receptor de andrógenos en dichas etapas de la vida, tal como ha sido posible demostrar en roedores (Rey, 2000).

Después de la pubertad no se conoce con exactitud el papel exacto que cumpliría, sin embargo se ha detectado por medio de estudios de histoquímica, que podría estar ligada en la movilidad espermática en el adulto (Llinás y Pérez, 2003).

#### **2.4.2 Sexo femenino**

El rol exacto de esta glicoproteína en el ovario aún no está muy esclarecido (Kohls, 2007).

Rey *et al.* (2013), basándose en estudios experimentales que se han hecho en animales (Figura 5), mostraron que la AMH puede modular 3 procesos esenciales: 1) La producción de estrógenos al inhibir la actividad de la aromatasa en respuesta a la FSH. 2) El reclutamiento inicial de folículos primordiales independiente de gonadotrofinas. 3) el reclutamiento cíclico de folículos secundarios dependiente de FSH.

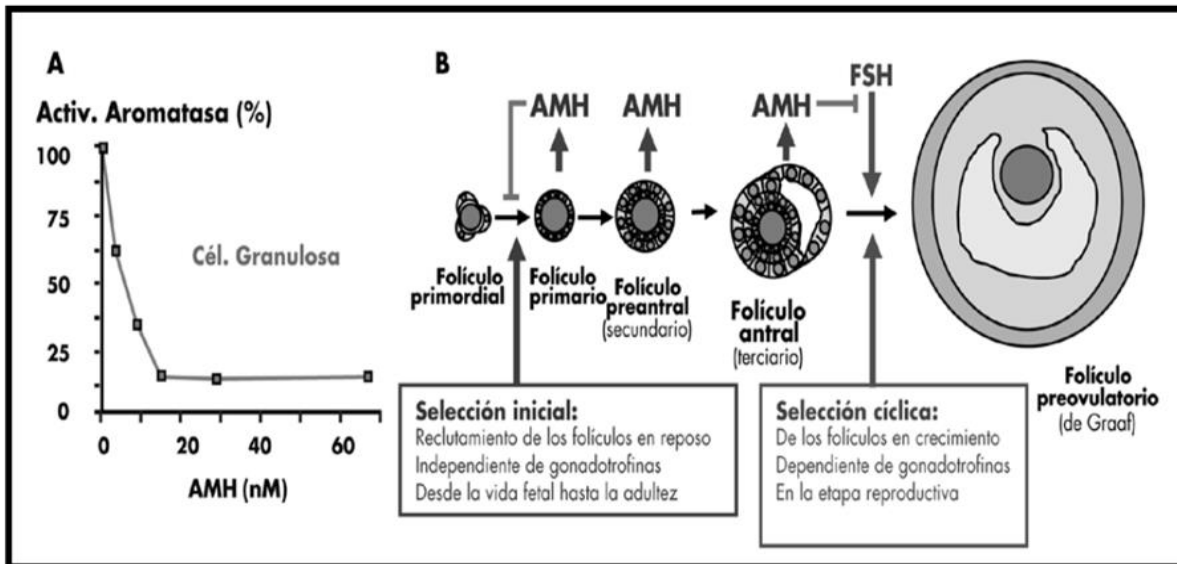


Figura 5. Actividad de la AMH en el ovario. A: la AMH inhibe la actividad aromatasa de manera dosis-dependiente en las células foliculares (datos de Di Clemente y cols). B: la AMH producida por los folículos primarios, secundarios y terciarios inhibe el reclutamiento no cíclico de folículos primordiales independiente de gonadotrofinas y el reclutamiento cíclico dependiente de FSH (Rey *et al.*, 2013).

Por lo tanto, Rojas *et al.* (2014), mencionan procesos similares de la AMH pudiendo actuar en 2 niveles: inhibiendo el reclutamiento inicial de los folículos primordiales a primarios y disminuyendo el efecto estimulador de la FSH sobre el crecimiento de folículos preantrales y antrales pequeños, con lo cual se limita el número final de folículos antrales, regulando de esta forma el número de folículos preovulatorios o asegurando la monoovulación.

Estudios en ratas demuestran lo mencionado por (Rey *et al.* 2013; Rojas *et al.* 2014), que la AMH es capaz de inhibir el inicio del crecimiento de folículos primordiales en cultivos de ovarios de roedores recién nacidos (Kohls, 2007).

Se ha propuesto también que en las células de la granulosa, la AMH reduciría la presencia de receptores de LH (Carvajal *et al.*, 2012).

La función fisiológica de esta hormona en humanos y hembras adultas aún sigue siendo un área de investigación activa actualmente; Souza *et al.* (2015), mencionan procesos iguales en diferentes especies de animales, modulando de igual manera el crecimiento folicular temprano y así inhibiendo un número excesivo de folículos, entren en la piscina de folículos crecientes, previniendo el agotamiento prematuro de la reserva folicular ovárica, demostrando así que tendría el mismo rol en la mayoría de las especies de animales.

## **2.5 Intervención de la AMH en la foliculogénesis**

La foliculogénesis es resultado de un complejo equilibrado entre la proliferación, diferenciación y muerte celular tanto de los compartimentos de células somáticas y germinales del folículo. Se ha reportado que la AMH podría tener un papel importante en la foliculogénesis interviniendo en algunos procesos (Figura 7) (Rocha, 2010; Rojas *et al.*, 2014).

Entre las semanas 11 y 12, las ovogonias se diferencian en ovocitos primarios y se rodean de células granulosas, para formar así los folículos primordiales que se observan en el ovario aproximadamente durante la semana 14 y adquiere un máximo grado de desarrollo entre las semanas 20 y 25 (Jairo *et al.*, 2005).

Durante la etapa fetal existen en el ovario varios millones de folículos, al nacimiento entre uno y dos millones, y al comienzo de la pubertad entre 400000-500000 folículos primordiales de los cuales el 1% ovulará (Zylbersztein, 2008).

En los mamíferos al nacimiento cuentan con un número variable de folículos sanos en sus ovarios (Ribeiro *et al.*, 2014).

La hembra bovina nace con aproximadamente 200 mil folículos de los cuales muy pocos se activan o inician su crecimiento y la mayor parte de ellos sufre atresia en diferentes etapas de desarrollo. Al nacimiento los folículos están en la fase más elemental y se conocen como folículos primordiales. Posteriormente estos folículos se activan y se transforman en folículos primarios y secundarios, hasta este momento los folículos no tienen antro (etapa preantral) y su desarrollo es independiente de las gonadotropinas. Cuando los folículos forman el antro se conoce como folículos terciarios y su desarrollo es dependiente de las gonadotropinas (etapa antral) (Hernández, 2012).

Se ha observado que en la raza Bos indicus tienen mayor número de folículos antrales en sus ovarios en comparación con razas Bos Taurus (Ribeiro *et al.*, 2014).

En bovinos, la unidad funcional del ovario es el folículo y se compone de un oocito en desarrollo rodeado por una o varias capas de células somáticas, que son el sitio de acción y síntesis de gran número de hormonas y factores de crecimiento que promueven y regulan el desarrollo folicular, gracias a un sistema de comunicación bidireccional mediante la transferencia de señales locales y

endocrinas que se establece con las células somáticas y el oocito. En el caso de los roedores la reserva folicular empieza al momento del nacimiento en cambio los primates y especies domesticas lo hacen en la vida fetal (Castillo, 2011).

Sin embargo la activación y el crecimiento inicial de los folículos primordiales y posteriores al desarrollo folicular están comandados por factores de crecimiento intraováricos de acción local no dependientes de gonadotropinas (Figura 6). El papel del oocito en la activación de los folículos primordiales está determinado por la acción del figla, también llamado Fig $\alpha$ . Se trata de un gen que coordina por lo menos dos acciones en el oocito: (1) la expresión de genes estructurales de proteínas que componen la zona pelúcida (2) la producción de uno o más factores esenciales para la organización de folículos primordiales (Castillo, 2011).

Recientemente se describieron receptores androgénicos (RA) en folículos en transición a primarios, indicando su influencia temprana en el desarrollo folicular (Zylbersztein, 2008).

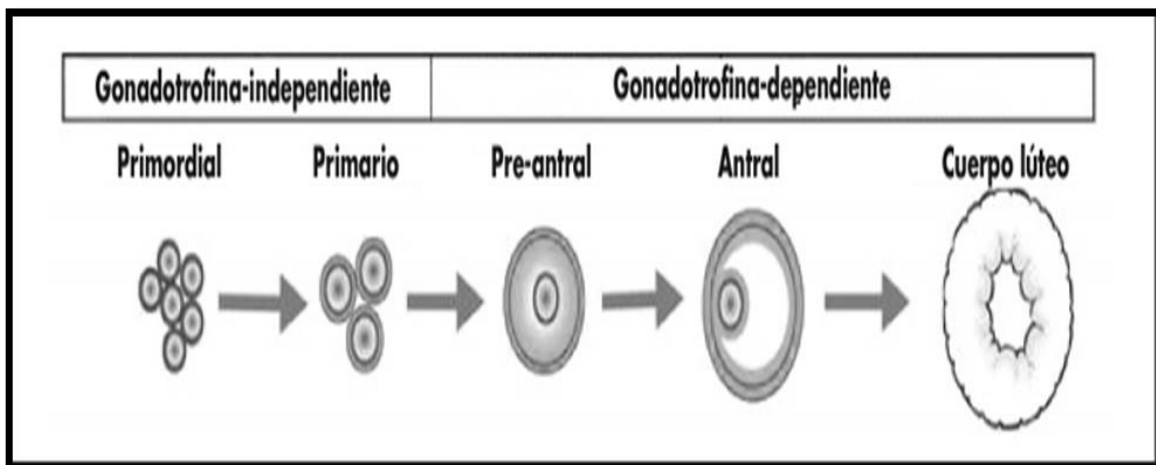


Figura 6. Foliculogénesis (Zylbersztein, 2008).

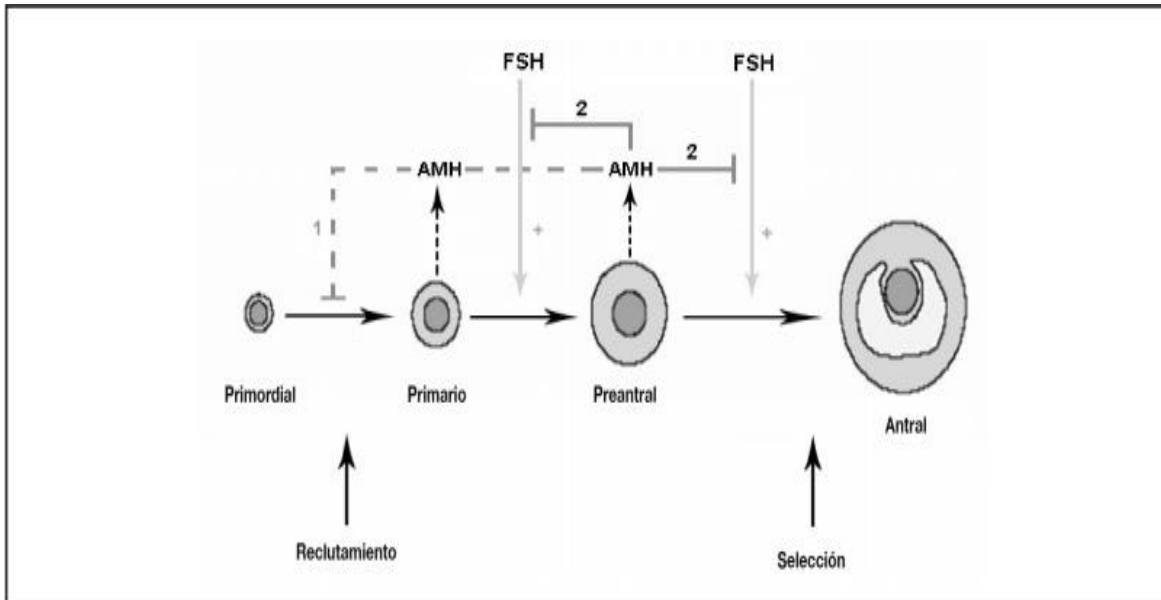


Figura 7. Intervención de la AMH en la foliculogénesis (Zylbersztein, 2008).

Adicionalmente, dos miembros de la superfamilia del factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), el factor de crecimiento y diferenciación 9 (GDF-9) y la proteína morfogénica de hueso 15 (BMP-15), también son expresadas de manera específica en el oocito en estadios tempranos y juegan un papel importante promoviendo el crecimiento folicular hacia el estadio primario (Figura 8) (Castillo, 2011).

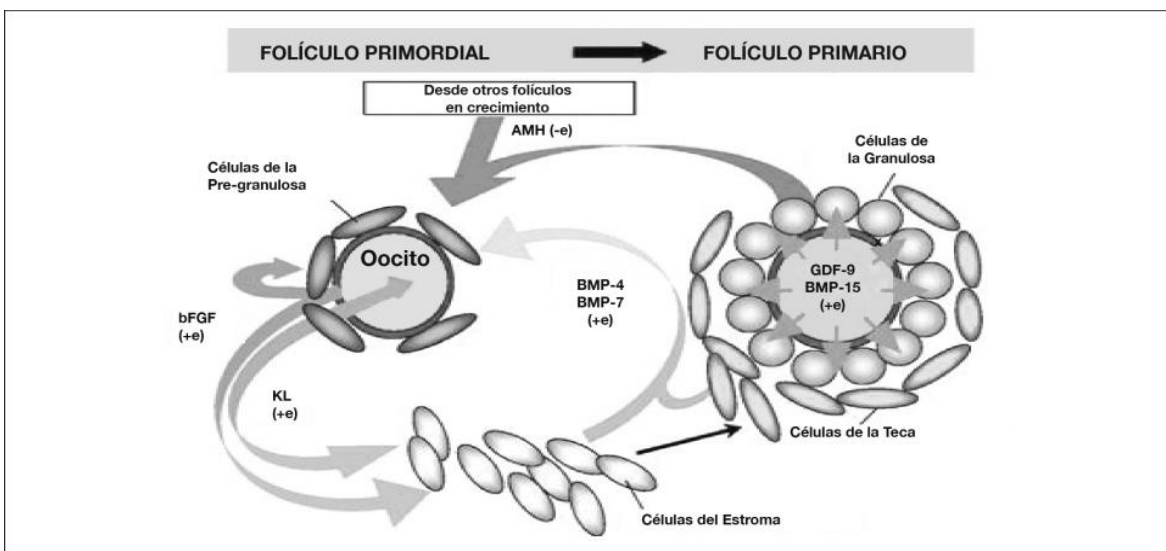


Figura 8. Desarrollo folicular: Folículo primordial- folículo primario. Factores de crecimiento que los regulan (Zylbersztein, 2008).

## 2.6 Niveles séricos de la AMH

### 2.6.1 Sexo masculino

Gracias a la empresa (Diagnostic System, laboratorio, Beckman coulter, Webster, TX. Específico de Estados Unidos de Norteamérica), se establecieron los resultados en ng/ml. El límite inferior detectable para la AMH fue de 0,05 ng/ml y sus coeficientes intra e inter-ensayo fueron 3,4 y 6,5% respectivamente en humanos (Fuentes *et al.*, 2013).

Al nacimiento la AMH se sigue produciendo y se mantiene en altas cantidades y para posteriormente hacer un declive en la pubertad, ya que la testosterona y la espermatogénesis son un potente inhibidor de esta hormona. Después de la pubertad su producción sigue durante toda la vida pero en cantidades menores. Los túbulos seminíferos son el componente principal de los testículos. Desde el nacimiento y durante todo el período prepuberal (es decir, hasta las edades 9-14 años), el volumen de los túbulos seminíferos depende principalmente de las células de Sertoli, mientras que el aumento significativo del volumen testicular (Figura 10), durante el desarrollo puberal se debe principalmente a la proliferación de células germinales (Rey *et al.*, 2013).

Como es producida únicamente por las células sertolianas, le confiere un gran valor como marcador sérico en el estudio de la función espermatogénica prepuberal (Rey, 2000).

En la (Figura 9) se pueden observar los niveles circulantes de gonadotropinas, testosterona (T) y AMH en el sexo masculino empezando desde la gestación (etapa fetal), hasta el nacimiento y pubertad y en el (cuadro 1), se



puede observar los niveles séricos en especies de animales en una condición de castración.

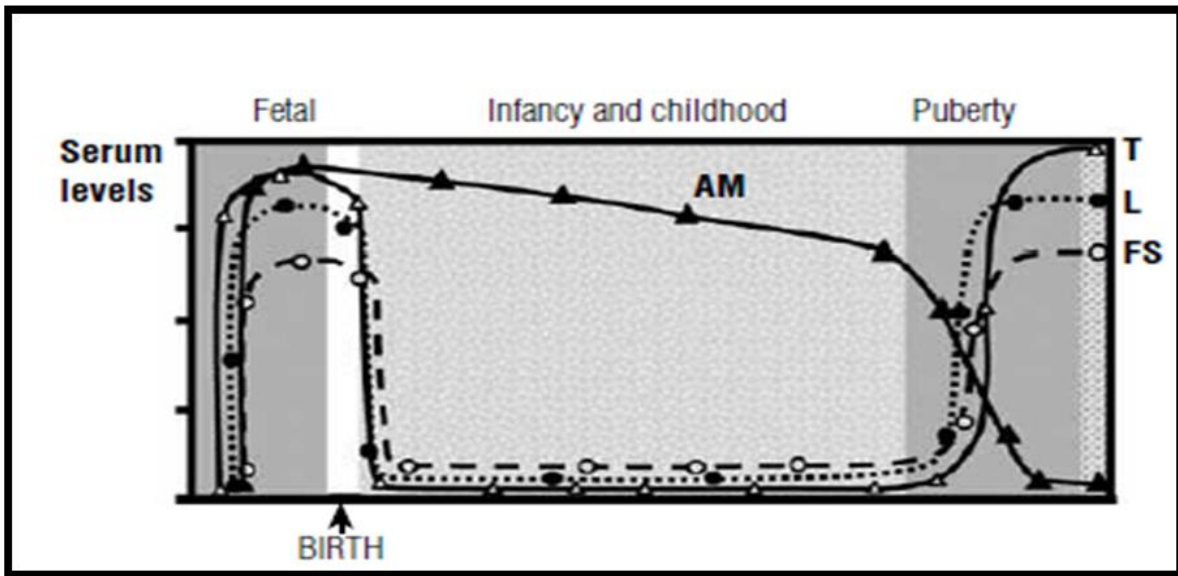


Figura 9. Niveles circulantes de AMH desde la etapa fetal hasta la pubertad (Grinspon y Rey, 2011).

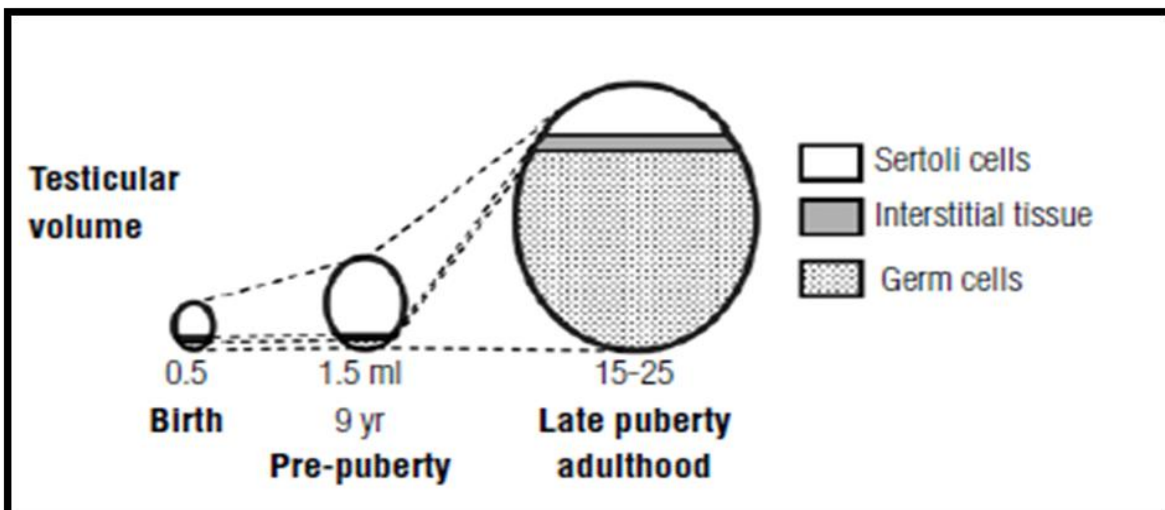


Figura 10. Desarrollo esquemático de la evolución del volumen testicular desde el nacimiento hasta la edad adulta (Grinspon y Rey, 2011).

A continuación se muestra una tabla de citando los valores séricos de la AMH tanto en hombres como en mujeres (Figura 11). Cabe destacar que habitualmente se informan los resultados en ng/ml o en pmol/l, siendo 1 ng/ml = 7,14 pmol/l (o 1 pmol/l = 0,14 ng/ml) (Rey, 2000).

<b>TABLA 1</b>						
<b>Valores normales de AMH sérica*</b>						
Edad	n	AMH sérica				
		Media $\pm$ EE		Rango**		
		pmol/l	(ng/ml)	pmol/l	(ng/ml)	
<b>Varones</b>						
<15 días	6	229 $\pm$ 59	(32,1 $\pm$ 8,3)	76-381	(10,6-53,4)	
15 días-1 año	22	465 $\pm$ 93	(65,1 $\pm$ 13,0)	251-679	(35,2-95,1)	
1,01-4 años	17	499 $\pm$ 66	(69,9 $\pm$ 9,2)	360-638	(50,4-89,4)	
4,01-7 años	16	438 $\pm$ 61	(61,3 $\pm$ 8,4)	309-566	(43,3-79,3)	
7,01-9 años	14	336 $\pm$ 47	(47,0 $\pm$ 6,6)	234-438	(32,8-61,3)	
>9 años***	I	22	249 $\pm$ 26	(34,9 $\pm$ 3,7)	194-304	(27,2-42,6)
	II	25	159 $\pm$ 25	(22,2 $\pm$ 3,5)	107-211	(15,0-29,6)
	III	8	79 $\pm$ 28	(11,0 $\pm$ 3,9)	12-145	(1,7-20,3)
	IV-V	8	48 $\pm$ 14	(6,7 $\pm$ 1,9)	14-81	(2,0-11,3)
Adultos	21	30 $\pm$ 4	(4,2 $\pm$ 0,6)	22-38	(3,1-5,3)	
<b>Mujeres</b>						
Prepúberes	20	23 $\pm$ 4	(3,1 $\pm$ 0,6)	0-74	(0-10)	
Adultas	22	14 $\pm$ 4	(2,0 $\pm$ 0,6)	0-75	(0-10)	
Menopáusicas	21	Indetectable				

Figura 11. Valores séricos en hombres y mujeres (Rey, 2002).

Cuadro 1. Valores de referencia en las concentraciones de AMH en suero en diversas especies.

<b>Concentración de AMH (ng/ml)</b>		
<b>Animales</b>	<b>Castrado</b>	<b>No castrado</b>
<b>Perro</b>		
-Hembra	< 0,02	> 0,5
- Macho	< 0,1	> 2,0
<b>Gato</b>		
-Hembra	< 0,1	> 2,0
<b>Caballo</b>		
-Macho	< 0,1	> 2,0

### 2.6.2 Sexo femenino

Se ha demostrado que la expresión ovárica es mucho más baja que la del testículo después del inicio de la diferenciación sexual gonadal, y a lo largo de la vida (Figura 12). Al nacimiento los niveles séricos son casi indetectables se incrementan sutilmente en los primeros 2 a 4 años de vida; hace un pico máximo en la pubertad con valores promedios de 4,7 ng/ml, se mantiene estable durante la adultez y disminuye posteriormente como signo de disminución de la reserva ovárica. En mujeres menopáusicas los niveles séricos de esta hormona son indetectables y en caso de una gestación los niveles circulantes son similares aquellos encontrados en la fase folicular de mujeres no embarazadas, los estudios

indican que la placenta no produce ni puede secretarla a la circulación materna, solo se ha demostrado que es expresada por las gónadas (Kohls, 2007; Zylbersztein, 2008).

Los niveles séricos de AHM también fueron medidos en diferentes momentos del ciclo, para comprobar si existían variaciones séricas. Los resultados sugirieron una completa ausencia de fluctuación (Kohls, 2007).

Sin embargo, datos recientes han demostrado que existen variaciones durante todo el ciclo (con niveles más bajos durante la fase secretora temprana) o incluso entre ciclos consecutivos. Pero estas variaciones no se consideran clínicamente significativas para recomendar la medición en una fase específica del ciclo (Karkanaki *et al.*, 2011).

En los ciclos estimulados en la mujer se caracterizan por un progresivo declinar de esta hormona hasta llegar a la fase folicular tardía. Esta reducción de los niveles durante la hiperestimulación ovárica controlada puede ser fácilmente explicada por el aumento del crecimiento de los pequeños folículos, causando diferenciación de las células de la granulosa, alterando así la habilidad de producirla, los estrógenos, atresia folicular y los andrógenos pueden adicionalmente contribuir a la disminución de esta hormona (Kohls, 2007).

Rozner y Verstegen, (2012) mencionan que la circulación sérica de la AMH es estable en los animales no estimulados a una sincronización de hormonas, pero disminuye en animales repetidamente estimulados, concordando con lo anterior en mujeres.

Se ha observado en ratas que la FSH tiene un efecto inhibitor sobre la AMH en las células de la granulosa, situación discutida en humanos. Se intenta especular que la FSH en estos tratamientos de inducción de ovulación, podría producir una inhibición local de esta glicoproteína como uno de sus mecanismos de acción (Zylbersztein, 2008).

Así el último ciclo menstrual en la mujer ocurre aproximadamente 5 años después del momento en que la AMH se hace indetectable en sangre (Rey *et al.*, 2013).

Estudios demuestran que las concentraciones séricas de la AMH tienen mayor sensibilidad al día 3 del ciclo y en mujeres mayores de 35 años de edad, para determinar la reserva ovárica y mayor relación con el número de folículos antrales, y utilidad en los ciclos de inducción ovárica controlada, en comparación con las concentraciones de FSH, estradiol e inhibina B y E2 (Kohls, 2007; Zylbersztein, 2008; Godoy *et al.*, 2012).

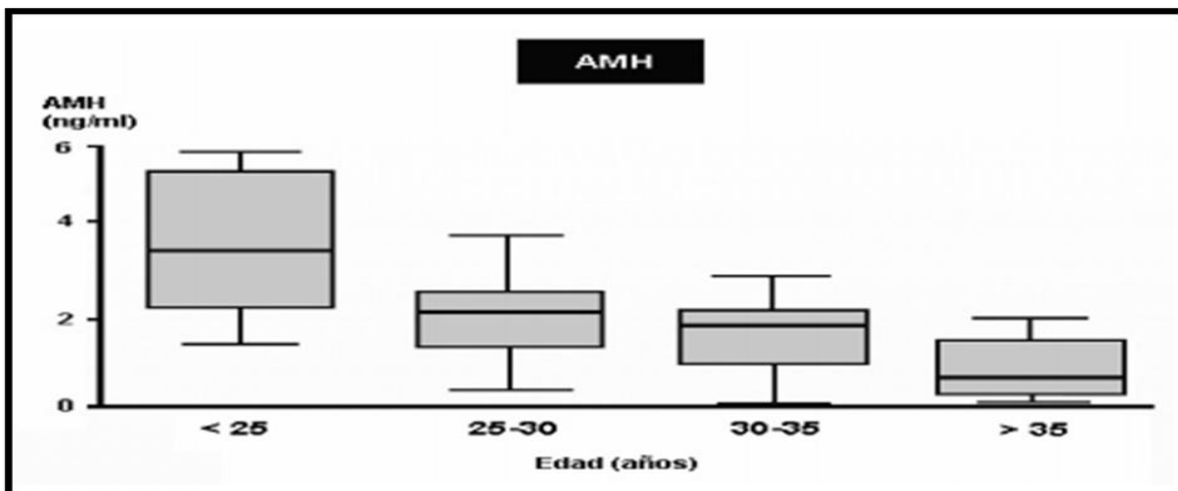


Figura 12. Variaciones de AMH en sangre con la edad en mujeres normales (Zylbersztein, 2008).

En el Síndrome de ovario poliquístico (PCO) el exceso de AMH estaría involucrada en el arresto folicular, inhibiendo el efecto de FSH sobre la expresión de la aromatasa impidiendo así la ovulación. El (PCO) es una de las causas más comunes de anovulación, infertilidad e hiperandrogenismo. El hiperandrogenismo intra-ovárico es el responsable de estimular el desarrollo folicular temprano, determina un exceso de 2 a 3 veces el número de folículos de 2-5 mm. Este exceso folicular produce un incremento en los niveles de AMH (Figura 13), que puede ejercer, a) un efecto inhibitorio sobre la aromatasa inducida por FSH y b) un deterioro de la acción de FSH y/o una acción prematura de LH sobre los folículos seleccionados en reclutamiento y mayor producción de andrógenos (Zylbersztein, 2008).

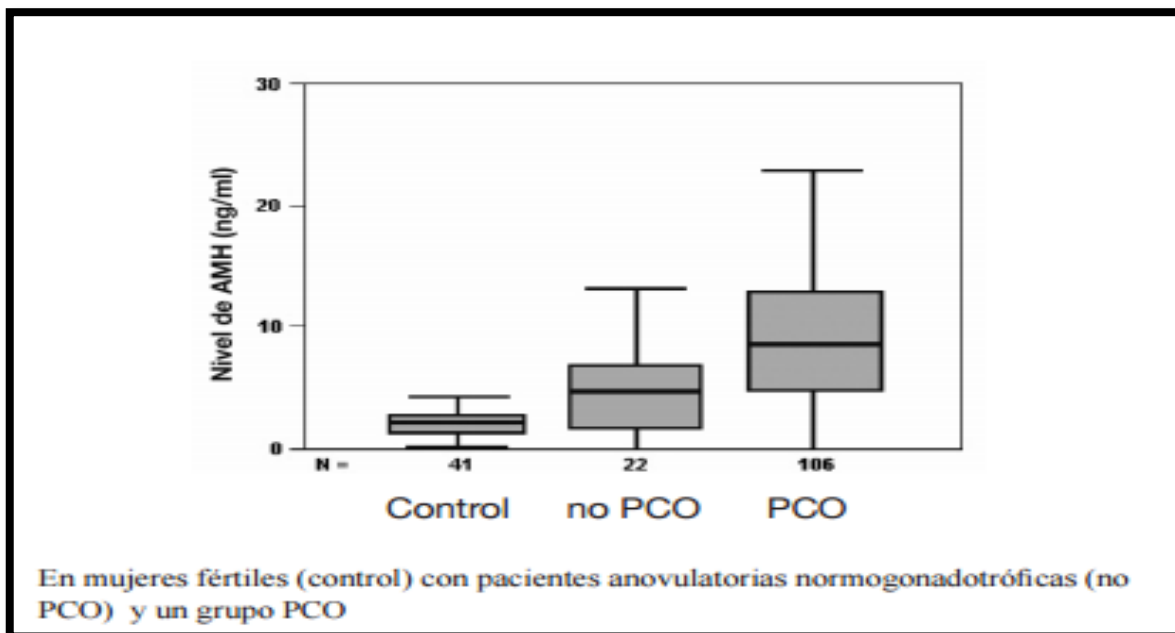


Figura 13. Comparación de los niveles de AMH en mujeres con Síndrome de Ovario Poliquístico y sin Síndrome (Zylbersztein, 2008).

Ha continuación se muestran los niveles séricos normales y también bajo diferentes condiciones clínicas (Figura 14) (Figura 15).

Interpretación	AMH nivel de sangre
Alta (a menudo SOPQ)	Más de 3,0 ng / ml
Normal	Más de 1,0 ng / ml
Bajo Rango Normal	0,7 a 0,9 ng / ml
Baja	0,3 a 0,6 ng / ml
Muy bajo	Menos de 0,3 ng / ml

Figura 14. Niveles séricos AMH en diferentes condiciones (Carvajal *et al.*, 2012).

<b>CONDICIÓN CLÍNICA</b>	<b>NIVELES DE AMH</b>
Perimenopausia	Bajos
Postmenopausia	Indetectables
Embarazo	Sin cambios
PCOS	Altos
Falla ovárica prematura	Bajos
Hipogonadismo hipotalámico	Sin cambios
Cáncer de ovario células de la granulosa	Altos
Baja respondedora	Bajos
Hiper respondedora	Altos

Figura 15. Interpretación de niveles séricos de AMH

## 2.7 Estudios de la AMH en bovinos y diferentes especies

### 2.7.1 Bovinos

Diferentes estudios realizados en bovinos muestran la relación que tiene la AMH sobre la fertilidad.

Ireland *et al.* (2008), reportaron en un estudio, que la variación en el conteo de folículos antrales (AFC) durante las olas foliculares está muy asociada con alteraciones en las concentraciones circulantes de AMH. Mencionan que el recuento de folículos antrales pueden ser marcadores fenotípicos fiables para predecir el número relativo de los folículos morfológicamente sanos y ovocitos en los ovarios, y tal vez predecir la longevidad potencial reproductiva en el ganado.

Posteriormente Jimenez-Krassel *et al.* (2015), llegaron a la conclusión, de que una sola determinación en la concentración de AMH en novillas lecheras jóvenes, puede ser un método de diagnóstico para predecir la longevidad del hato y que también puede ser un marcador genético útil para mejorar los sistemas de crianza y mejorar la longevidad de las vacas lecheras.

Pfeiffer *et al.* (2014), reportaron en vacas que la determinación de la AMH durante el ciclo estral, no se vio influenciada por la sincronización hormonal exógena. Estos datos señalan la posibilidad de medir la AMH en cualquier momento del ciclo, sin tener que cesar algún protocolo de IATF.

Sin embargo Ribeiro *et al.* (2014), reportan que en vacas de 2 y 3 partos mostraron concentraciones más altas que las de un solo parto. Observaron que vacas con baja concentración de AMH tenían menores tasas de preñez después



del primer servicio y una mayor incidencia de pérdida de la gestación entre los días 30 y 65, y una menor tasa de gestación al siguiente parto. También se vio que la AMH no tuvo una relación negativa con vacas que salían preñadas con dicho protocolo de inseminación artificial a tiempo fijo que se les practicaba. Pero si tuvo relación con la fertilidad en vacas que no salieron gestantes a dicha IATF y posteriormente esas vacas fueron nuevamente inseminadas y unas por monta natural. Así las vacas gestantes a dicha a IATF mostraron valores séricos más elevados, en comparación con las que no salieron preñadas y posteriormente se inseminaron. Llegaron a la conclusión, que protocolos de IATF podrían tener alguna implicación en la anulación positiva que tiene la AMH sobre la fertilidad.

En otro estudio que se hizo sobre la relación que había entre la hormona antimülleriana con la superovulación en vacas. Se vio que estuvo altamente asociada con la respuesta superovulatoria y con el potencial de embriones, llegando a la conclusión que esta hormona podría convertirse en un método práctico y útil para predecir la repuesta folicular y la capacidad superovulatoria de cada vaca, mejorando la eficiencia de los programas de transferencia de embriones en ovulaciones múltiples en hatos lecheros (Souza *et al.*, 2015).

En caso de una patología quística en bovinos se observa un aumento sérico de la AMH durante la persistencia folicular, lo que traería como consecuencia una inhibición en el desarrollo de folículos en distintas fases de crecimiento (Díaz *et al.*, 2013).

### **2.7.2 Ovinos**

Se ha demostrado también, que la testosterona es capaz de inhibir la expresión de la hormona en las células de la granulosa. En un estudio realizado en la Universidad Austral de Chile, demostraron que en la exposición prenatal a un exceso de testosterona (EPT) en la oveja, traía como consecuencia una disminución en la expresión a nivel de ARN mensajero (ARNm) de la AMH, y del factor de transcripción nuclear kappa (NFkB) en los folículos secundarios, por la modulación negativa que tiene la testosterona sobre el gen de la AMH a través del NFkB (Rojas *et al.*, 2014).

En otro estudio se incubaron folículos ováricos de vacas con testosterona in vitro se observó que disminuía la expresión del gen de AMH en las células de la granulosa de folículos antrales pequeños, lo cual concordó con los resultados obtenidos de la Universidad de Chile, en los folículos secundarios. En las hembras ovinas la EPT, tienen en común con las mujeres SOP los elevados niveles de andrógenos durante la preñez, lo que podría ser el origen de la desregulación en la síntesis y secreción de AMH observada en las hijas y madres con este síndrome (Síndrome del ovario poliquístico) SOP (Rojas *et al.*, 2014).

### **2.7.3 Humanos**

En un estudio realizado en 39 mujeres homogéneas y normo-ovuladoras, con un índice de masa corporal normales (BMI), en las que se dosó periódicamente y diariamente la AMH en la periovulación. Se describió una inflexión en la curva de la AMH, que desciende significativamente su concentración desde el día 4 pre-pico de LH hasta el post-ovulatorio inmediato.

Una disminución en la etapa temprana de la fase lútea indicaría que el efecto luteinizante influiría negativamente en la producción de AMH por las células de la granulosa; por lo menos durante un ciclo espontáneo (De caro y Sícaro, 2008).

En el caso de hipogonadismo, su diagnóstico se puede perder en la infancia y la niñez, si la atención es únicamente enfocada hacia las gonadotropinas y testosterona. Testículos pequeños son indicativos de reducción del número de células de Sertoli. Marcadores de células de Sertoli, como AMH sérica y la inhibina B, son más útiles en la evaluación de la función gonadal en comparación con la FSH y sin necesidad de pruebas de estimulación, y orientan el diagnóstico etiológico de hipogonadismo masculino en pacientes pediátricos (Grinspon y Rey, 2011).

En la detención de la espermatogénesis o síndrome de Sertoli sólo (Aplasia germinal), su diagnóstico en los túbulos seminíferos es solo por inmunohistoquímica. La regulación después de nacer es compleja; niveles basales de AMH son independientes de la regulación de gonadotropinas, por ejemplo, durante la infancia y en pacientes con hipogonadismo hipogonadotrópico (Chalabi *et al.*, 2012).

En un estudio realizado en la Universidad de Mosul (IRAQ) demostraron que en hombres con azoospermia y oligospermia, la AMH tenían niveles más bajos en comparación con los hombres normales. También los hombres oligospermicos tenían más testosterona y AMH y menores concentraciones de FSH sérica en comparación con los azoospermicos, esto los llevo a una

conclusión, que la AMH debe ser evaluada cuidadosamente en hombres oligospermicos y azoospermicos y puede ser un marcador indicativo de proliferación de células de Sertoli y la actividad de síntesis de proteínas en respuesta a FSH antes de la pubertad, y también un marcador útil de la acción de la FSH en la evaluación de la función testicular en un estado prepuberal (Chalabi *et al.*, 2012).

Fuentes *et al.* (2013), reportan en mujeres infértiles en Chile, que el hábito de fumar se asocia con una baja concentración plasmática de AMH (Figura 16), pero aún se desconoce el mecanismo exacto por el cual el humo ejercería esta acción, pero se cree que el humo induciría la apoptosis de las células de la granulosa provocando un descenso.

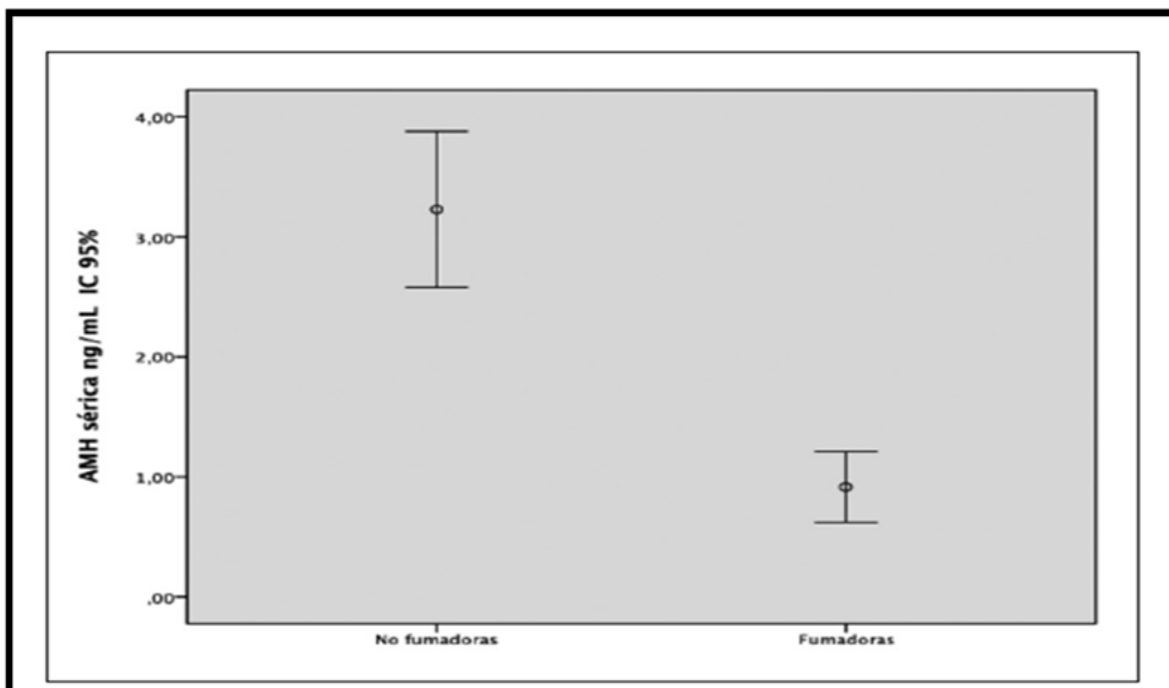


Figura 16. Niveles de AMH en fumadoras y no fumadoras. Los círculos señalan el valor de la AMH. Los círculos señalan el valor de la media y las barras los intervalos de confianza de 95% (Fuentes *et al.*, 2013).

#### **2.7.4 Equinos**

Almeida *et al.* (2011), midieron concentraciones séricas de la AMH en yeguas, durante el ciclo estral, gestación y con animales que presentaban tumores de le células de la granulosa. Así demostraron que en yeguas con ciclos normales y en gestación no hubo cambios séricos de esta hormona, en cambio en yeguas con tumores tuvieron una elevada concentración y una vez extirpado los tumores observaron un descenso notable en la concentración sérica. Así llegaron a la conclusión que la medición de AMH, fue un marcador útil para el diagnóstico de los tumores de la célula de la granulosa (GCT) en yeguas.

Una investigación realizada en una yegua en Arabia se reportó que la AMH y la inhibina- $\alpha$  tienen una mayor positividad en las células de la granulosa neoplásicas entre otros marcadores. De acuerdo con los resultados obtenidos de esa investigación llegaron a la conclusión que la AMH, inhibina- $\alpha$ , y GATA-4 pueden tener un papel como herramienta de diagnóstico para este tipo de tumores que se presentan recurrentemente en esta especie. Entonces estos marcadores se pueden utilizar como herramienta útil de diagnóstico, en este tipo de patologías (Evkuran *et al.*, 2013).

#### **2.8 Nuevas alternativas de la AMH**

Por pertenecer a la familia del TGF $\beta$  (factor de crecimiento transformante $\beta$ ) cuyos miembros están implicados en procesos neoplásicos, actualmente está siendo muy estudiada en este tipo de patologías (Pascual-Leone, 2009).

Así la AMH recombinante humana está siendo usada en ensayos de antiproliferación celular y se ha visto que inhibe el crecimiento de tumores Müllertianos in vitro también como el crecimiento de metástasis de un melanoma ocular in vitro e in vivo. En la actualidad se están empleando métodos de cromatografía rápida de fase líquida para purificar la AMH humana, esta preparación es 10 veces más potente y está en evaluación de la FDA para estudios preclínicos de fase I in vivo contra tumores de ovarios (Pérez y Llinás, 2003).

La AMH ha sido también relacionada con el síndrome de fallo respiratorio en el recién nacido, que es más común en machos que hembras, el cual es causado por una deficiencia de surfactantes. Los andrógenos inhiben la síntesis de fosfatidilcolina, el cual es un componente fundamental del surfactante pulmonar. Como la AMH tiene niveles altos en el feto en la última parte de la maduración del pulmón, en la que la testosterona desciende, se estudiaron los efectos de esta hormona sobre la acumulación de fosfatidilcolina. Fragmentos de pulmón de fetos femeninos se incubaron con testículos fetales o con ovarios, o bien con concentraciones de AMH. Se obtuvo que tanto los fragmentos de testículo fetal, o la AMH añadida, suprimen la acumulación de fosfatidilcolina, lo mismo se obtiene si a fetos de 19 días se les inyecta AMH. Se cree que la AMH actúa por existir sus receptores en el pulmón, y esta cuestión se sigue investigando ya que sería la causa de la frecuencia en los neonatos masculinos de la deficiencia pulmonar. Además, la existencia de esos receptores han llevado al estudio de la posibilidad de utilización de la AMH en cánceres de pulmón (Pascual-Leone, 2009).

Se ha encontrado una acción de la AMH, de forma independiente de cAMP, sobre la meiosis de los ovocitos de rata, produciendo una inhibición que puede ser revertida por anticuerpos anti-AMH y por EGF (factor de crecimiento epidérmico), lo cual muestra la especificidad de la acción. Estos encuentros sobre el control de la AMH sobre la maduración de células germinales en machos y hembras, podrían en el futuro ser aplicables como anticonceptivo, con menor riesgo que los actuales (Pascual-Leone, 2009).

## **2.9 Medición de la AMH**

Gracias al clonado del gen AMH, fue posible desarrollar importantes herramientas para el estudio de la fisiología y la fisiopatología gonadales. La obtención de AMH recombinante y de anticuerpos monoclonales específicos permitió el desarrollo de tres inmunoensayos de tipo ELISA en 1990. Dichos ensayos eran de uso limitado a los laboratorios que los desarrollaron en Francia, los Estados Unidos y Australia. Recientemente, la empresa Beckman-Coulter ha discontinuado la comercialización del kit DSL y, si bien continúa comercializando el kit Immunotech, desde 2009 se está reemplazando progresivamente por una versión de nueva generación conocida como AMH Gen II. Existe buena correlación entre el ELISA Gen II y los previos ( $R^2$  0.971 con Immunotech y 0.930 con DSL). Sin embargo, puede ser necesario hacer algunas correcciones (Rey *et al.*, 2013).

Si bien los ensayos empleados para medir la AMH parecen ser bastante confiables, existen cuidados recomendables en cuanto a la toma y conservación de la muestra, es conveniente centrifugar la muestra de sangre y separar el

plasma o el suero y congelar de manera inmediata a menos que el dosaje se haga en los 2-3 días siguientes para evitar sobreestimaciones que pueden superar el 30%. Debe evitarse el congelamiento y descongelamiento repetido de las muestras. La conservación de muestras congeladas a -20 °C por más de 2 años también puede afectar los valores de manera muy significativa. La presencia de anticuerpos heterófilos, por ejemplo, en pacientes con enfermedades autoinmunes, puede provocar resultados falsamente elevados en la determinación de AMH sérica. Recientemente, se ha validado la utilidad de la cuantificación de AMH en gota de sangre seca, en papel de filtro como método mínimamente invasivo para la evaluación de la reserva ovárica (Rey *et al.*, 2013).

Cabe recordar que en muchos estudios realizados en bovinos y en otras especies de animales, se han basado en protocolos de medicina humana.



### 3.- CONCLUSIONES

Actualmente se dispone de más información e investigación en medicina humana en la predicción de la fertilidad (Reproducción asistida). Sin embargo existe muy poca investigación en bovinos. Los únicos reportes en la literatura son dados por los investigadores (Ireland *et al.* 2008; Pfeiffer *et al.* 2013; Ribeiro *et al.* 2014; Souza *et al.* 2015; Jimenez-Krassel *et al.* 2015), en las que manifiestan que esta hormona pudiese servir de indicativo en la predicción de la fertilidad de las hembras, por otro lado las investigaciones reportan que la medición de esta glicoproteína ha sido utilizada para el diagnóstico de patologías de monorquidismo y neoplasias testiculares en equinos, caninos y felinos.

Es necesario conocer qué otros factores pueden alterar dicha concentración hormonal. Concluyendo así que valores séricos altos son un indicativo de neoplasias ováricas en la hembra bovina y es un indicador de la reserva folicular, como también niveles séricos adecuados son importantes para la normal esteroidogénesis. En bovinos machos valores elevados en un estado prepuberal es un indicativo fiable para la buena función sertoliana, pero valores fuera del rango sería un indicativo de tumores y valores altos después de la pubertad serian indicativos de un posible trastorno endocrino. Por lo cual la determinación plasmática de esta hormona resulta como un gran reto en la valoración de la capacidad reproductiva tanto en hembras como en machos, usándose como un factor de predicción.

#### **4.- RECOMENDACIONES**

En base a la literatura citada se recomienda lo siguiente:

1. Correlacionar valores cuantitativos de la AHM antes y después de la pubertad, con la fertilidad de los mismos, tanto en machos como en hembras.
2. Evaluar la AMH como una herramienta de diagnóstico para patologías gonadales.
3. Correlacionar los niveles de esta hormona con el éxito de IATF.

## 5.- LITERATURA CITADA

Almeida J., Ball B.A., Conley A.J., Place N.J., Liu I.K.M., Scholtz E.L., Mathewson L., Stanley S.D. y Moeller B.C. 2011. Biological and clinical significance of anti-Müllerian hormone determination in blood serum of the mare. *Theriogenology*. 76:1393-1403.

Bó G.A. 2002. Dinámica folicular y tratamientos hormonales para sincronizar la ovulación en el ganado bovino. *XI Congreso Venezolano de Producción e Industria Animal*. Valera, Venezuela.

Carvajal G.R., Alba S.J.F., Cortínez C.A., Carvajal M.A., Miranda V.C., Romero O.C. y Vantman B.D. 2012. Niveles de hormona antimülleriana y factor neurotrófico derivado del cerebro como predictores de función ovárica. *Revista Hospital Clínico Universidad de Chile*. 23:159-67.

Castillo L. 2011. Factores de crecimiento relacionados con la activación de folículos primordiales en bovinos. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*. 2:43-49.

Chalabi S.S., Wattar Y. y Algalili I. 2012. Anti-Mullerian Hormone is a significant Marker for Male infertility. *Tikrit Journal of Pharmaceutical Sciences*. 8:1-5.

Colina C.A.R. y Moncada R.C.E.A. 2007. Determinación sexual primaria o sexo genético. *Revista de Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes*. Chile. :67-74.

Cutting A.D., Ayers K., Davison N., Oshlack A., Doran T., Sinclair A., Tizard M., y Smith C. 2014. Identification, Expression, and Regulation of Anti-Müllerian Hormone Type-II Receptor in the Embryonic Chicken Gonad. *Biology of Reproduction*. 90:1-2.

De Caro R. y Sícario L. 2008. Hormona Anti-Mülleriana de la Embriología a la Fertilidad. *Saegre*. :1-27.

Díaz U.P., Stangaferro M.L. Rey F., Gareis N.C. Matiller V., Salvetti N.R., Barberis F., Quercia E. y Ortega H.H. 2013. Determinación de la hormona antimülleriana (amh) en líquido folicular de bovinos con folículos persistentes inducidos y enfermedad quística ovárica espontánea. *X Simposio Internacional de Reproducción Animal*. Irac. :287.

Evkuran D.G., Alcigir E., Mert P.I., Vural A.S., Esra C.H., Rifat M.R. y Kuplulu S. 2013. Granulosa Theca Cell Tumor in An Arabian Mare: Are Immunohistochemically Loss of GDF-9 and BMP-6 Proteins Associated with High GATA-4, Inhibin-a, AMH Expressions ?. *Journal Home Page*. 19:237-242.

Fuentes A., Escalona J., Cespedes P., Reppeto V. y Iñiguez G. 2013. El hábito de fumar se asocia a baja concentración plasmática de hormona antimülleriana en mujeres infértiles. *Revista Médica de Chile*. 141:23-27.

Galvez F., Sandoval A. y Borunda J. 2004. El factor de crecimiento transformante B como blanco terapéutico. *Salud Pública de México*. 46:341-350.

Godoy H.S.M., Ulloa A., Martínez J., Marsai E., Rivas R. y Lascurain L. 2012. Hormona antimülleriana como marcador de respuesta ovárica en fertilización in vitro. *Ginecología y Obstetricia de México*. 80:1-7.

Grispon R. y Rey R. 2011. New perspectives in the diagnosis of pediatric male hypogonadism: the importance of AMH as a Sertoli cell marker. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. 55:8.

Hanley N.A., Hagan D.M., Clement-Jones M., Ball S.G., Strachan T., Salas-Cortes L., McElreavey K., Lindsay S., Robson S., Bullen P., Ostrer H. y Wilson D.I. 2000. SRY, SOX9, and DAX1 expression patterns during human sex determination and gonadal development. *Mechanisms of Development*. 91:403-407.

Hernández C.J. 2012. Fisiología clínica de la reproducción de bovinos lecheros. Desarrollo folicular. Delegación Coyoacán México D.F. :20-24.

Ireland J.L.H., Scheetz D., Jimenez-Krassel F., Themmen A.P.N., Ward F., Lonergan P., Smith G.W., Perez G.I., Evans A.C.O. y Ireland, J.J. 2008. Antral Follicle Count Reliably Predicts Numbers of Morphologically Healthy Oocytes and Follicles in Ovaries of Young Adult Cattle. *Biology of Reproduction*. 79:1219-1225.

Jairo J., Jubiz W. y Isaza C. 2005. Gen SRY y ausencia de tejido testicular en una mujer 47 XYY con disgenesia gonadal. *Colombia Médica*. 36:40-43.

Jimenez-Krassel F., Scheetz D.M., Neuder L.M., Ireland J.L.H., Pursley J.R., Smith G.W., Tempelman R.J., Ferris T., Roudebush W.E., Mossa F., Lonergan P., Evans A.C.O. y Ireland J.J. 2015. Concentration of anti-Müllerian hormone in dairy heifers is positively associated with productive herd life. *Journal of Dairy Science*. 98:3036-3045.

Karkanaki A., Vosnakis C. y Panadis D. 2011. The clinical significance of anti-Müllerian hormone evaluation in gynecological endocrinology. *Hormones*. 10:95-103.

Knower K.C., Kelly S. y Harley V.R. 2003. Turning on the male – SRY, SOX9 and sex determination in mammals. *Cytogenetic and Genome Research*. 101:185-198.

- Kofman A.S. y Queipo G. 2005. Diferenciación sexual normal y patológica. *Mensaje Bioquímico. Facultad de Medicina UNAM.* México DF. 29:0188-137.
- Kohls G. 2007. Hormona antimülleriana basal (AMH) como predictor de respuesta ovárica. Tesis de licenciatura. *Universidad Nacional de México.* México, D.F. :20-28
- Pascual-Leone A.M. 2009. Diferenciación sexual: el factor de Jost. *Academia de Número y Vicepresidenta de la Real Academia Nacional de Farmacia.* 75:419-466.
- Pérez J.F.N. y Llinás E.L. 2003. Síndrome de persistencia del conducto de Müller. *Unidad de Urología, Clínica Infantil Colsubsidio.* Bogotá, Colombia. :73-83.
- Pérez R.E. 2012. Factor 9 de crecimiento y diferenciación asociado al índice de prolificidad en la oveja pelibuey. Tesis de posgrado. Colegio de Postgraduados. *Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas.* Montecillo, Texcoco, Edo. De México. :1-42.
- Pfeiffer K.E., Jurado L.J. y Larson J.E. 2014. Determination of anti-Müllerian hormone at estrus during a synchronized and a natural bovine estrous cycle. *Domestic Animal Endocrinology.* 46:58-64.

- Rey R. 2000. Evaluación de la función testicular en el varón prepúber: utilización del dosaje de hormona antimülleriana (AMH) sérica. *Archivos Argentinos de Pediatría*. 98:315.
- Rey R., Bedecarrás P., Brugo O.S., Vincentiis S., Calamera P., Blanco A.M., Grinspon R., Freire A. y Buffone M.G. 2013. Hormona antimülleriana (AMH) como herramienta diagnóstica en la mujer. *Revista Saegre*. :12-24.
- Ribeiro E.S., Bisinotto R.S., Lima F.S., Greco L.F., Morrison A., Kumar A., Thatcher W.W. y Santos J.E.P. 2014. Plasma anti-Mullerian hormone in adult dairy cows and associations with fertility. *American Dairy Science Association*. 97:6888-6900.
- Rocha A.V., Lima V.I.B, Olazia N.K.P., Nair B.S., Cabral C.C., Viana S.J.R., Ribeiro R.A.P. y Figueiredo J.R. 2010. Bone Morphogenetic Protein-6 (BMP-6) inducible atresia in goat primordial follicles cultured in vitro. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*. 30:770-776.
- Rojas PP., Recabarren MP., Palma S., Maliqueo M., Carrasco A., Sir-Petermann T. y Recabarren SE. 2014. Morfometría ovárica y expresión del ARN mensajero de hormona antimülleriana (AMH), receptor de FSH (FSHR) y factor nuclear kappa B (NFkB) en folículos en crecimiento de borregas expuestas prenatalmente a testosterona. *Archivos de Medicina Veterinaria*. 46:13-21.



Rozner A. y Verstegen J. 2013. Serum anti-mullerian hormone (amh) correlates with ovarian reserve and embryo production in superovulated holsteins. *European Embryo Transfer Association*. 29:6-7.

Souza A.H., Carvalho P.D., Rosner A.E., Vieira L.M., Hackbart K.S., Bender R.W., Dresch A.R., Verstegen J.P., Shaver R.D. y Wiltbank M.C. 2015. Relationship between circulating anti-Mullerian hormone (AMH) and superovulatory response of high-producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 98:169-178.

Zylbersztein C. 2001. Hormona anti Mülleriana. Su influencia en la salud reproductiva en la mujer. *Revista de Endocrinología Ginecología y Reproductiva*. 32:13-28.